

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Frecuencia de seroreactores a *Lawsonia intracellularis*
en granjas porcinas tecnificadas de los departamentos
de Ica, Arequipa, La Libertad y Lambayeque**

TESIS

para optar el título profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Astrid Pilar Calderon Aguirre

Lima – Perú

2006

CONTENIDO

RESUMEN	ii
Summary	iii
Lista de cuadros	iv
Lista de figuras	v
Lista de Apéndice	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Antecedentes Históricos de la bacteria	3
2.2. Características de la bacteria	4
2.3. Patogenie	5
2.4. Inmunidad	7
2.4.1. Inmunidad celular	7
2.4.2. Inmunidad humoral	8
2.4.3. Inmunidad maternal	9
2.5. Manifestaciones Clínicas	9
2.5.1. Enteropatía Proliferativa Hemorrágica Aguda	10
2.5.2. Enteropatía Crónica No hemorrágica	10
2.5.2.1. Adenomatosis intestinal	11
2.5.2.2. Enteritis Necrótica	11
2.5.2.3. Ileitis Regional	11
2.6. Lesiones	11
2.7. Epidemiología	12
2.7.1. Hospederos	14
2.7.2. Factores de riesgo asociados con EPP	15
2.8. Diagnóstico	16
2.9. Tratamiento	18
2.10. Control	19

III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Lugar de estudio	21
3.2. Animales	21
3.3. Recolección de Muestras	21
3.4. Materiales	21
3.4.1. Muestreo	21
3.4.2. Equipos y Materiales de laboratorio.....	21
3.4.3. Reactivos y materiales de diagnóstico	22
3.4.4. Desarrollo de la prueba	23
3.5. Análisis de datos	24
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	26
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	32
VII. APÉNDICE	34
VIII. LITERATURA CITADA	36

I. INTRODUCCIÓN

El consumo de carne de porcino en el mundo se encuentra en una relevante posición frente a otras especies, con promedios per cápita de 14 kg/año. Según las estadísticas del Ministerio de Agricultura, la población nacional de porcinos esta en el orden de los 2.900.000 cerdos que producen anualmente 90.000 TM de carne; en tanto que la producción porcina nacional constituye el 2.5% del PBI agropecuario (Camacho, 2003). Estos datos evidencian la importancia de la industria porcina en la economía de nuestro país, ya que representa una alternativa económica y de alto valor proteico con gran aceptación por el consumidor.

En ese sentido; consideramos que las enfermedades que atacan al ganado porcino deben ser objeto de una mayor investigación, porque afectan a la industria porcina en general en las diferentes etapas de producción. Dentro de las enfermedades infecciosas, las de tipo bacteriano son las causantes de grandes pérdidas económicas en la industria porcina nacional, provocando un alto índice de mortalidad, significativos gastos en tratamientos y un retraso en el tiempo del retorno esperado de la inversión.

Lawsonia intracellularis es una bacteria intracelular obligada, no ajena al comportamiento mencionado (Lawson *et al.*, 1993) y causante de la Enteritis Proliferativa Porcina (EPP) o Ileitis.

En consecuencia, el impacto económico negativo de la EPP a la industria porcina ocurre debido al consumo extra de alimento consumido por unidad de ganancia de peso en animales afectados. Trabajos recientes han demostrado que en casos leves, un tratamiento puede costar de 8.11 hasta 22.19 dólares por animal en los Estados Unidos (ELANCO, 2000).

En nuestro país, se realizó un estudio que detectó a través de la Prueba de Inmunofluorescencia indirecta, una seropositividad total de 38,7%, siendo el primer reporte científico que nos demuestra la presencia de *Lawsonia intracellularis* en Lima (Valdez *et al.*, 2001), pero es necesario seguir con las investigaciones en otras regiones. Por ello, el objeto del presente estudio fue determinar la frecuencia de seroreactores a la bacteria en granjas tecnificadas de los departamentos de Ica, Arequipa, La Libertad y Lambayeque; mediante la prueba de Inmunofluorescencia indirecta; contribuyendo así, al estudio de la presencia, frecuencia y mejor entendimiento de la epidemiología de esta enfermedad bajo las particulares condiciones de estas regiones.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Antecedentes Históricos de la bacteria

En el año de 1931, fueron descritas por primera vez las lesiones de EPP en Ames (Iowa) por Biester y colaboradores. Posteriormente, en 1974 Rowland y Lawson propusieron que el agente causante de Ileitis sea clasificado como *Campylobacter (Vibrio) spotorum* basado en proliferación adenomatosa en la mucosa intestinal en lechones destetados. Dicha bacteria, denominada como *Campylobacter* era similar, pero antigénicamente distinta de las especies de *Campylobacter* que habían sido asociadas previamente con Ileitis. Es mediante PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) que se comparó el ADN del *Campylobacter* con el ADN de bacterias de enterocitos infectados, no encontrándose homología. Sin embargo, la homología genética más cercana fue con la bacteria del género *Desulfovibrio* (Mc Orist, 1993; Gebhart 1993, 1994 y Holyoake, 1994). Luego, al realizarse los experimentos para comprobar si el *Campylobacter spotorum subsp. Mucosalis* era causante de Ileitis, se logró determinar que pocos animales lograban tener la enfermedad (lesión intestinal) (Roberts *et al.*, 1977); por lo que en 1985, McPother descartó al *Campylobacter* como agente causal, utilizando cultivos puros de *Campylobacter spotorum* en porcinos gnotobióticos no produciéndose lesiones de Enteritis Proliferativa. Así; en el año de 1993 Gebhart sugiere que el *Ileal Symbiont intracellularis* debe ser caracterizado como un nuevo género dentro de la clase Proteobacteria (Lawson y Gebhart, 2000).

La clasificación final del organismo fue hecha en Octubre del año 1995, vía método de análisis taxonómico molecular, donde se obtuvieron microorganismos purificados por medio del cultivo de mucosa ileal de animales afectados con EPP, hallándose así; a un nuevo género similar al *Desulfovibrio desulfuricans* (91% de similaridad); (Lawson y Gebhart, 2000) (Beckler *et al.*, 2004).

Finalmente, la identificación taxonómica del organismo fue formalizado y se designó como *Lawsonia intracellularis* en honor a Gordon Lawson, investigador de la Facultad de Veterinaria de Edimburgo y responsable del grupo investigador (McOrist *et al.*, 1995).

Características de la bacteria

El agente causal de la mencionada enfermedad es la bacteria *Lawsonia intracellularis*, perteneciente a la familia *Desulfovibrionaceae*, por su estrecha relación filogénica con *Desulfovibrio desulfuricans*, bacteria comensal habitual en el intestino de los mamíferos que pertenece a la clase Proteobacteria (Gebhart *et al.*, 1993; McOrist *et al.*, 1993).

L. Intracellularis es un bacilo Gram (-), ácido resistente, no esporulado, libre de flagelos e inmóvil. La morfología es de un vibrio típico con forma curva, puede ser pleomórfica en cultivo *in vitro* o tomar forma sigmoidea, mide 1,25-1,75 µm de largo y 0,25-0,43 µm de diámetro (Gebhart *et al.*, 1993). Crece en cultivos intracelulares, dentro de cultivos celulares de enterocitos y se multiplica por fisión binaria (Gebhart *et al.*, 1993), requiere la presencia de 5-15% de O₂, 8.8% CO₂ y 37°C de temperatura, sobrevive en tejidos fríos hasta -70° C (Lawson *et al.*, 1993).

La inoculación oral en porcinos con cultivo de *Lawsonia intracellularis* resulta en infección intracelular y lesiones típicas de Ileitis (McOrist *et al.*, 1993). La *Lawsonia intracellularis* puede sobrevivir en condiciones extracelulares por una o dos semanas a 5 - 15°C.

Son poco conocidas las bases genéticas para la virulencia, patogenicidad o fisiología de *Lawsonia intracellularis*. Por lo que en la actualidad, todos los

esfuerzos están en busca de determinar la secuencia genómica completa y; dentro de dicha secuencia identificar genes que sean potenciales antígenos diagnosticables; dentro de éstos, antígenos vacunales y factores de virulencia (Gebhart, 2001).

Patogenie

La Lawsonia intracellularis requiere de un ambiente microaerófilo para su cultivo y el protocolo de aislamiento es muy complejo, ya que requiere el uso de un sistema de cultivo tisular. Se sabe que *L. intracellularis* se adhiere a los enterocitos que están en actividad mitótica de las criptas de la mucosa ileal (McOrist *et al.*, 1999) y además, presenta una estrecha relación con la membrana celular, formando una vacuola, esta entrada se realiza a través de microfilamentos mediados, luego, la bacteria es viable rápidamente (menos de 3 horas), escapa de la vacuola y permanece libre en el citoplasma apical. La replicación bacteriana ocurre al mismo tiempo en que la célula huésped es infectada y generalmente, se activa su división celular, lo cual beneficia la habilidad de replicación de la bacteria (Roof *et al.*, 2004). *Lawsonia intracellularis* induce mitosis persistente de los enterocitos. La mitosis normal esta regulada por factores de crecimiento como el: factor de crecimiento (EGF), factor transformador de crecimiento alfa (TGF α) y factor de crecimiento insulina-like (IGF-I), los que son alterados en la EPP, ocasionando un retardo en la apoptosis (Rabb, Leiser *et al.*, 1998). Las glándulas intestinales pueden volverse alargadas y frecuentemente ramificadas, hay pérdida de proteínas corporales dentro de las heces y el posterior bloqueo, son las probables causas de reducción en ganancia de peso y alteración de la conversión alimenticia en porcinos afectados con lesiones de Enteritis Proliferativa (McOrist, 1996).

Lawsonia intracellularis ha mostrado previamente ser dependiente a la presencia de otras enterobacterias, no manifestándose infección alguna experimentalmente en porcinos gnotobióticos (McOrist *et al.*, 1993), es probable que la presencia de éstas bacterias en el medio intestinal, produzcan los cambios físico-químicos y de potencial de oxidación-reducción, pH y

disminución de tensión de oxígeno que son necesarios para la colonización y proliferación de *Lawsonia intracellularis* (López, 2003).

Se ha demostrado experimentalmente que el típico período de incubación es de siete a catorce días con lesiones tempranas que aparecen en el ileon terminal, siendo evidentes los cambios histopatológicos de Enteritis Proliferativa, luego de ocho a diez días después de la exposición, y las lesiones alcanzan el máximo alrededor de veintiún días post reto, indicando una incubación larga de dos a tres semanas (Roberts *et al.*, 1977; Maporther *et al.*, 1987; McOrist y Lawson, 1989; Mc Orist *et al.*, 1993). La eliminación de la bacteria a través de las heces se da luego de veintiún días después de la infección. Los signos clínicos y las lesiones proliferativas empiezan a declararse sobre los catorce días (Gebhart, 2005).

Se ha encontrado que solo hay un tipo de *Lawsonia intracellularis* que causa las diferentes formas de Enteritis Proliferativa en estudios en Australia, Inglaterra y en USA se han encontrado aislados idénticos en cuanto al cultivo y a las características morfológicas (Mc Orist *et al.*, 1996), los animales expuestos a la enfermedad crónica pueden desarrollar la forma necrótica o la aguda hemorrágica de la enfermedad (Maporther *et al.*, 1987). Sin embargo, no todos los animales responden de la misma manera a la infección y no todos se infectan simultáneamente.

Estudios inmunohistoquímicos han demostrado también, un incremento en la concentración del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) en las criptas hiperplásicas, en tejido linfoide y en células de la lámina propia. El PCNA es una proteína de 36Kda que actúa como cofactor para la enzima ADN polimerasa en la fase S del ciclo celular, así como en la síntesis del ADN asociado a los mecanismos de reparación (Machuca *et al.*, 2002).

Inmunidad

La respuesta inicial a *Lawsonia intracellularis* podría probablemente ser en las placas de peyer, donde la bacteria pasa a través del epitelio intestinal. En los nódulos linfáticos mesentéricos se produce IgA e IgG (Inmunoglobulinas). La secreción de IgA podría prevenir una próxima entrada de *L. intracellularis*

en células de la mucosa. La respuesta inmune humoral es primariamente IgM de corta vida (Holyoake, 1994). En estudios usando cultivo puro de enterocitos de ratón infectados con *L. intracellularis*, la respuesta de IgG fue evidenciada a los catorce días (Knittel *et al.*, 1998). Pocas informaciones relatan que es posible una inmunidad local pero es probable que secretores de IgA jueguen un rol en el bloqueo de patógenos y subsecuente invasión (Roof, 2004). De alguna manera, *L. intracellularis* evita la unión de IgA con la fracción secretoria observándose enterocitos inmaduros repletos de IgA, lo que trae como consecuencia una inmunodepresión local (López, 2003).

En experimentos se detectó: Inmunidad mediada por células, respuesta inmune local (IgA específica contra *Lawsonia intracellularis* en el ileon) y respuesta sistémica humoral (Gebhart 2005).

En general, los factores de virulencia no están bien definidos y así el significado de una respuesta inmune sistémica es desconocido (Roof, 2001).

2.4.1. Inmunidad celular

Los organismos intracelulares usualmente estimulan una respuesta mediada por células (Gebhart, 2005).

Al detectarse animales seropositivos en una granja se refleja una exposición al organismo *Lawsonia intracellularis*, porque la bacteria reside dentro de los enterocitos a través, de una inmunidad mediada, determinada por la producción de Interferón gamma (IF γ), existe un método elispot de células T, que detecta la secreción de *L. intracellularis* específica, contra IF γ o Linfocitos T activados, en otras palabras, evalúa el número de linfocitos T específicamente activados contra el antígeno de *L. Intracellularis*, mediante éste método se comprobó que el IF γ es también, un componente crítico del sistema inmune para el control de *L. intracellularis*, al inocularse cultivos aislados de dicha bacteria en ratones con IF γ deficiente, indicando que en éstos, la infección persistió por la duración de la prueba (35 días) y con experiencias de mortalidad, no ocurriendo lo mismo en los animales normales (Smith *et al.*, 2000).

2.4.2. Inmunidad Humoral

En general, la respuesta humoral contra la infección por *Lawsonia intracellularis* de porcinos es débil y de corta vida, pero es la más importante (Knittel *et al.*, 1998). El reporte de la duración mas larga de anticuerpos contra *L. intracellularis* en suero fue menor de dos meses (Lawson y Gebhart, 2000). Existe poca información disponible en la literatura sobre el nivel de respuesta inmune humoral en porcinos infectados naturalmente o experimentalmente con *L. intracellularis*. En un estudio, se muestra que la IgG podría detectarse inicialmente a las dos semanas después de un reto con cultivos puros de *L. Intracellularis*, dándose picos de IgG alrededor de la 3º semana y luego tienden a caer (Knittel *et al.*, 1998; Guedes *et al.*, 2002).

La medicación antibiótica fue introducida en el desarrollo de inmunidad, modelo descrito previamente para reducir los signos clínicos de enfermedad. Una estrategia exitosa para inducir el desarrollo de inmunidad a *L. intracellularis* es a través de la infección subclínica de porcinos continuamente medicados con bajos niveles de antibióticos. El nivel de medicación antibiótica es necesaria, para permitir la infección subclínica y posterior inmunidad, la que depende también del grado de exposición a la bacteria (Collins *et al.*, 2001).

2.4.3. Inmunidad Maternal

Se han hallado anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* en el calostro de hembras en lactación y en el suero de lechones destetados. El nivel de anticuerpos en el suero de estos lechones declina rápidamente en la gran parte de los casos, lo cual soporta la idea de una transferencia pasiva. Esta inmunidad maternal contra *L. intracellularis* se da al menos por cinco semanas. Los lechones pueden empezar mostrando anticuerpos contra *L. intracellularis*

alrededor de la 7º semana de edad. Los animales en crecimiento empiezan a presentar bajos títulos de anticuerpos, alrededor de la 16º semana (Guedes *et al.*, 2001). Lo cual puede explicar en parte, porque la enfermedad ocurre típicamente en animales adultos, probablemente, es más fácil de adquirir con la caída de la inmunidad materna (Roof *et al.*, 2004).

Altos títulos de IgG contra *L. intracellularis* detectados en lechones de tres semanas indican que éstos anticuerpos fueron adquiridos de la madre. Los lechones pueden ser protegidos también vía la ingestión de leche conteniendo IgA, la cual protege a los lechones hasta el destete (Collins *et al.*, 2001).

La presencia de animales positivos a anticuerpos contra *L.intracellularis* hasta la 4º semana en algunos estudios, estaría relacionada con la transferencia pasiva de inmunidad materna. A partir de la 7º semana el porcentaje de animales serológicamente positivos declina observándose un incremento en la 13º semana, así, en el período comprendido entre la 7º y 10º semanas de vida, los animales tendrían un mayor riesgo de adquirir la infección (Machuca *et al.* 2004).

Manifestaciones clínicas

La EPP ocurre en todo el mundo y produce manifestaciones clínicas variables. Tiene dos formas de presentación. Ambas, la EP aguda y la EP crónica tienen un modelo único histológico, el cual es la proliferación de células epiteliales intestinales (Gebhart, 2005).

Enteropatía Proliferativa Hemorrágica aguda (EPH)

Se denomina así, a la forma aguda y hemorrágica que afecta a porcinos adultos (gorrinos en acabado con más de 80Kg., hembras de reemplazo y jóvenes entre cuatro y doce meses). La EPH aparece con mayor recurrencia en porcinos en crecimiento (Moore *et al.*, 1996). No sólo proliferan enterocitos inmaduros, sino también, se da una inmadurez a nivel capilar por lo que existe fragilidad capilar, con los consiguientes cuadros hemorrágicos (López, 2003). Se presentan signos clínicos de anemia aguda hemorrágica con heces negras y no

formadas, algunos animales muertos sin anormalidades fecales al inicio, muestran sólo palidez al momento del sacrificio (McOrist, 1999). Probablemente, alrededor del 50% de los animales clínicamente afectados pueden morir en un corto periodo de tiempo, sin marcada pérdida de condición corporal. Las hembras preñadas que son afectadas clínicamente pueden abortar, la mayoría a los 6 días del comienzo de signos clínicos (Beers, 1984; McOrist, 1999).

Enteropatía crónica, no hemorrágica

Generalmente afecta a gorrinos en crecimiento (8-55 Kg. de peso o de 8-16 semanas) y tiene tres presentaciones denominadas: Adenomatosis intestinal (AI), Enteritis Necrótica (EN) e Ileitis Regional (IR) (Perfumo *et al.*, 1997; Stege *et al.*, 2004). Los signos clínicos son variados, algunos son benignos con una diarrea no específica y/o una forma inaparente, con anorexia, decaimiento, apatía e incluso muerte en casos de formas más severas.

Los animales clínicamente saludables de granjas infectadas son frecuentemente seropositivos a *Lawsonia intracellularis* lo que genera un impacto negativo en el crecimiento (Guedes, 2005).

La forma crónica, puede ser bastante devastadora porque causa una performance reducida en los gorrinos de crecimiento y acabado, por un largo período de tiempo (Lawson y Gebhart, 2000).

2.5.2.1. Adenomatosis intestinal (AI)

Generalmente aparece en cerdos de seis a veinte semanas de edad (Gebhart 2005). *Lawsonia intracellularis*, evita la maduración normal de los enterocitos formándose capas de enterocitos inmaduros, lo cual va a desarrollar la lesión de adenomatosis (López, 2003).

2.5.2.2. Enteritis Necrótica (EN)

Los animales muestran una severa pérdida de la condición corporal, variaciones del grado de inflamación y cambios necróticos en la mucosa (Guedes, 2005). Histológicamente, la necrosis coagulativa es claramente

definida, con depósitos de fibrina y células inflamatorias degenerativas (Lawson y Gebhart, 2000).

2.5.2.3. Ileitis regional (IR)

La presentación no es común pero si se presenta, la mortalidad es usualmente asociada con perforaciones de la pared ileal hipertrofiada, predominando una peritonitis generalizada terminal. En muchos casos, la Enteritis Proliferativa ocurre abruptamente de cuatro a diez semanas y luego de los signos clínicos hay un retorno del apetito y una tasa de crecimiento a niveles normales (Emsbo, 1951; Rowland y Hutchings, 1978). Se reconoce el músculo liso contraído, hay una hipertrofia de la capa muscular externa, el músculo está casi rígido en la parte inferior del intestino, de aquí el tradicional nombre de "intestino en forma de manguera" es apropiado (Lawson y Gebhart, 2000).

Lesiones

Por microscopia electrónica se observan bacterias *Lawsonia intracellularis* en el citoplasma apical de las células epiteliales afectadas (Guedes, 2005). Las lesiones de Enteritis Proliferativa crónica ocurren más comúnmente en los 50 centímetros terminales del intestino delgado y en el tercio superior del colon proximal incluyendo en el ciego. La razón por la que afecta sólo estos últimos cincuenta centímetros del ileón, es por la presencia de receptores específicos para *L. intracellularis*, aunque aún no están caracterizados (McOrist, 1999) y por la abundancia de tejidos linfoides en el extremo distal del ileón.

La superficie de la mucosa afectada es húmeda, pero no mucoide, algunas veces con manchas de exudado inflamatorio pobremente adherido.

Las dos formas de la enfermedad tienen sólo un modelo histológico, el cual es la proliferación de células en el epitelio intestinal con la presencia de muchos organismos intracelulares curvados en el citoplasma apical de esas células en proliferación (Kwiecien *et al.*, 2001; Calle *et al.*, 2002).

No existen diferencias de patogenicidad entre cepas aisladas de porcinos en cuadros agudos y crónicos. Una cepa aislada de enteritis tipo crónica puede reproducir un cuadro agudo y viceversa, las diversas características en la granja guardan relación con las formas de presentación, edad de los animales, método de diagnóstico, factores nutricionales y ambientales (Smith, 1997).

La infección subclínica requiere de factores estresantes para manifestarse. La diseminación de la bacteria mediante la materia fecal comienza a la 2ª semana post infección y disminuye a la 4ª semana post infección, en la que ya se detectan anticuerpos eliminándose por cuatro semanas más, siendo el pico de excreción de bacterias a los veintiún días (Gebhart *et al.*, 2001; Lawson *et al.*, 2000).

Los anticuerpos calostrales protegen a los lechones hasta las 3-4 semanas de vida. En este momento comienzan a descender los anticuerpos calostrales, favoreciendo la susceptibilidad de los lechones en el periodo post destete (Wendt, 2000). En el período comprendido entre la semana 7 y 10 de vida, los animales tendrían mayor riesgo de adquirir la infección (Machuca *et al.*, 2004). Estudios de exposición a la bacteria indican que la infección puede persistir en algunos animales por lo menos diez semanas (Smith, 1997), tiempo en que se convierten en los principales difusores de la bacteria jugando un rol importante en la transmisión a animales jóvenes susceptibles, vía eliminación de heces infectadas.

Trabajos en PCR y serología han indicado que la mayoría de infecciones ocurren al final del post destete (entre seis y dieciséis semanas) (Moller *et al.*, 1998). Siendo posible que estos cerdos actúen como potente origen de infección en áreas de granjas afectadas (Bane, 1997; Smith, 1997).

La EPP es más común cuando los animales se encuentran al final del crecimiento, con un status de alta sanidad, con fluctuaciones en la temperatura, cuando existen recientes traslados y mezcla de animales (Jordan *et al.*, 2004).

Esta relacionada principalmente a líneas híbridas de razas blancas, con situaciones de estrés relacionadas a mal manejo, alimentación o clima (McOrist *et al.*, 1999; Moore *et al.*, 1996; Veenhuizen *et al.*, 1998).

Heces de animales infectados pueden proveer el origen de nuevas infecciones para animales susceptibles (McOrist y Gebhart, 1999) y el contacto entre animales demuestra que es una importante ruta de transmisión.

Otro importante mecanismo de transmisión incluye vectores mecánicos como botas de goma y vectores biológicos como ratones, pequeñas aves e insectos. En estudios experimentalmente controlados (Guedes y Gebhart, 2002) las heces evaluadas por PCR han detectado *L. intracellularis* por un periodo mayor de doce semanas (Guedes, 2005). Todos los reportes sugieren que los porcinos infectados subclínicamente eliminan dicha bacteria en las heces particularmente después de un estrés (McOrist y Gebhart, 1999).

A pesar que los mecanismos que inician la EPP son desconocidos, se sabe que factores estresantes en el ambiente o estrés social pueden alterar la motilidad intestinal y dejar la mucosa intestinal más susceptible a una infección. Animales menores de un año que viven en instalaciones nuevas, son mas probables a ser diagnosticadas con EPP que porcinos que viven en instalaciones antiguas. Cuando hay nuevas instalaciones y una reducción en el uso de antibióticos puede incrementarse la probabilidad de presentación de enfermedad entérica; existiendo una interacción de varios factores (Bane *et al.*, 2001).

La reproductoras, probablemente, actúan como una fuente importante de transmisión para lechones no destetados, a pesar de que la potencia de transmisión de *L. intracellularis* entre porcinos podría ser mayor en recría y en la unidad de crecimiento-acabado porque aumenta el contacto entre animales y hay mayor cantidad de población (Bronsvort *et al.*, 2001).

La asociación de la estrategia todo dentro-todo fuera, con un riesgo reducido de tener seropositivos, sugiere que la transmisión de *L. intracellularis* dentro de unidades de reproductores es reducida por minimizar el contacto directo e indirecto entre animales susceptibles e infectados (Bronsvort *et al.*, 2001).

Esto puede ser reflejado generalmente con un mejor nivel de manejo, limpieza y desinfección de las salas (Bronsvort *et al.*, 2001)

Los porcinos inoculados con *L. intracellularis* pueden excretar dosis infectivas en la heces por al menos diez semanas post infección, pudiendo sobrevivir en cantidades biológicamente significativas por al menos dos semanas a 5 - 15°C (Schwartz 2004).

Hospederos

La EPP ha sido descrita ocasionalmente en diferentes especies, tales como el zorro (Eriksen y Landesberk, 1985), hurones (Fox y Lawson, 1988), hamsters (Frisk y Wagner, 1977), ratas (Vanderbergher *et al.*, 1985); y ferrets (Lawson *et al.*, 1993). También en herbívoros, tales como el caballo (Duhamel y Wheeldon, 1982; Williams *et al.*, 1996), conejos, cobayos, ciervos (Drolet *et al.*, 1996), ovejas, (Cooper y Gebhart, 1998) y en aves corredoras, como el emú y el avestruz (Cooper, 1996); en todas estas especies se encontró una bacteria intracelular muy similar a *Lawsonia intracellularis*; esta bacteria ha sido observada dentro de células epiteliales de porciones de mucosa intestinal en proliferación; como se puede observar, no existe evidencia de hospederos como fuente de infección de la enfermedad en porcinos (McOrist *et al.*, 1996). Se sospecha que esta bacteria es ubicua de los porcinos y hay indicios que existe una transmisión entre éstos y roedores (Gebhart *et al.*, 1994).

La inclusión reciente de primates no humanos a la lista de especies afectadas con EP sugiere que la infección puede existir en seres humanos (Duhamel, 2001).

En perros, los cambios característicos de la presencia de esta bacteria intracelular fueron reportados en 2 casos (Collins y Libal, 1983; Leblanc *et al.*, 1993; Tomanova *et al.*, 2003).

Factores de riesgo asociados con EPP

Dentro del manejo, los factores que influyen en la presentación de EPP son: tamaño de la granja (reproductores y gorrinos en crecimiento), el ambiente (sistema de ventilación), la bioseguridad (aislamiento y frecuencia de llegada de animales adicionales), historia de los animales (genotipo, alimento, medicación por agua, edad de destete, tamaño de grupo y densidad de animales) (Bane *et al.*, 2001); cambios en el uso de antibióticos al mismo tiempo. Brotes de enfermedad que han sido notificados en periodos con extremas diferencias de temperatura entre el día y noche; humedad o estrés por calor (Class *et al.*, 2004), adaptación a nuevos ambientes (Schwartz, 2004). El estrés asociado con la introducción de nuevos animales a grupos de reproducción y cambios en el uso de antibiótico han sugerido el rol desencadenante de la enfermedad (O'Donovan, 2001; Bane *et al.*, 2001).

Se indica que el piso con una insuficiente limpieza, es un factor importante de riesgo para Ileitis (Smith *et al.*, 1998), los pisos con heces permanentes son una fuente de transmisión importante (Bane, 1997; Smith, 1997).

En cuanto a la alimentación, la dieta es también un factor importante en la salud animal, porque regula la flora microbiana intestinal (Leser *et al.*, 2000). El alimento no peletizado afecta la morfología intestinal con un incremento en el tamaño y volumen de las criptas (Brunsgard, 1998). Un alimento líquido fermentado posterga la excreción de *L. intracellularis* y el ácido láctico reduce las lesiones, se sabe que el ácido láctico mata a las bacterias del intestino por que disminuye el pH estomacal (Boesen *et al.*, 2004).

Se presenta una susceptibilidad en las razas blancas, particularmente Landrace, Large White y razas sintéticas comerciales incorporadas. La enfermedad ha sido regularmente diagnosticada en la raza Duroc y otras razas de colores (Bane, 1997; Smith, 1997).

Diagnóstico

Clínicamente, el diagnóstico de EPP es difícil porque los signos no son específicos y son escasos. Un signo de EPP es la dramática variación del peso

en los animales de la misma edad y la diarrea sanguinolenta no siempre ocurre (Gillespie, 2000).

Los test *ante-mortem* son más útiles para verificar la prevalencia, estudios epidemiológicos y para monitorear la infección en animales individuales todo el tiempo. El cultivo de heces no es una opción porque el agente es una bacteria obligada intracelular y es difícil de detectar. Otros métodos más viables de diagnóstico incluyen, la detección de *Lawsonia intracellularis* en heces por PCR, coloración de anticuerpos indirectos y pruebas serológicas para detectar anticuerpos contra *L. intracellularis*: como el test de Inmunofluorescencia indirecta (IFI), o un test de inmunoperoxidasa monocapa (IPMA). Los más importantes son:

A) El PCR es un análisis muy exitoso y específico usando "primers" derivados de varias porciones de la secuencia de la ADN de *L. intracellularis*. Se utiliza para detectar el ADN de la bacteria en los tejidos intestinales (frescos o fijados en formalina) o en las heces. El uso del PCR en muestras de heces requiere una atención considerable a los métodos apropiados de extracción del ADN bacteriano, de modo que, esté libre de sustancias inhibitorias. Es altamente específico (97%) y menos sensible y determina si un porcino está sufriendo una infección actual, detectando solo animales con lesiones activas y los que están excretando al organismo en ese momento, con suficientes bacterias para la detección por este método. La eliminación de *L. intracellularis* parece ser cíclica, incluso en animales donde el ileon está colonizado (Just *et al.*, 2001; Gebhart, 2005).

B) El IFI detecta anticuerpos de IgG contra *L. intracellularis* mediante el empleo de anticuerpos monoclonales, Knittel detectó un 90% de animales seropositivos, mostrando que la serología (IFI) es más sensible para detectar positivos que el PCR de muestras fecales. La prueba IFI usada en nuestro estudio, cuenta con varias ventajas como: su alta sensibilidad (91%), su alta especificidad (97%) y su bajo costo (Lawson *et al.* 1993; Knittel 1998). Una limitación de éstos test es la manutención *in vitro* del antígeno y que los resultados serológicos indican exposición previa a la bacteria y no el estado actual de la enfermedad (Knittel *et al.*, 1998). Además, se menciona que las

cepas poco virulentas parecen no inducir anticuerpos detectables (Schwartz, 2004); por otro lado, cuando se compararon resultados serológicos usando los tests de IFI y IPMA ambos fueron encontrados similares en sensibilidad y especificidad, en evaluaciones con animales experimentalmente infectados (Knittel *et al.*, 1998; Guedes, 2005).

A la necropsia, el posible uso de la coloración Ziehl-Nielsen o la coloración Gimenez en frotis mucosal para demostrar los organismos intracelulares, es una simple técnica que requiere mínimo tiempo y equipo (Love *et al.*, 1977). La histopatología de tejidos afectados revela diversas morfologías de las lesiones proliferativas. La identificación específica de *L. intracellularis* en estas lesiones pueden ser desarrolladas por coloración inmunohistoquímica de los tejidos (Lawson *et al.*, 1985; McOrist *et al.*, 1987).

Las técnicas de coloraciones de plata muestran claramente la presencia de la bacteria, pero éstas no son específicas para *L. intracellularis*. Modificaciones de la técnica de impregnación de plata, como la coloración Whartin-Starry es exitosa para uso de rutina (Young, 1969; Calle *et al.*, 2002), asimismo, ha sido considerada como una coloración definitiva para EPP demostrando directamente una bacteria curva en los enterocitos afectados (Schwartz, 2004).

Tratamiento

En brotes de EPP es posible usar antibióticos específicos. En EPP aguda, el uso de formulaciones de tiamulina y tilosina inyectables es usualmente recomendado para poblaciones en riesgo. Formulaciones en agua soluble de tiamulina, lincomicina o tilosina a altas dosis son una manera efectiva de tratar animales afectados. Muchos estudios han confirmado los efectos beneficiosos de tiamulina, tilosina y lincomicina en el alimento (McOrist, 2004). Las drogas mencionadas con una acción positiva contra *L. intracellularis* no parecen ser completamente efectivas por la resistencia que confieren, sobretodo cuando se medican animales a una inadecuada dosis por peso corporal; ésta inadecuada dosificación se da en hembras durante el verano, ya que consumen menor cantidad de alimento de lo normal.

Otro punto importante es cuando se deja de suministrar el antibiótico al trasladar los animales a la zona de acabado o a reproducción, siendo éstos susceptibles a una presentación aguda de la EPP (McOrist, 2004).

Un apropiado uso de antibióticos debe tener en cuenta el tipo de infección en cada granja y saber cuando esta ocurriendo la enfermedad. Así, se limitarían los signos clínicos mientras el grupo de animales este expuesto a la enfermedad y se desarrollaría un nivel de inmunidad natural.

Casos mas frecuentes han envuelto el 50% de animales en edad de acabado y hembras de reemplazo. Animales que exhiben signos clínicos necesitan un tratamiento inmediato. A pesar que no hay tratamiento inyectable para Ileitis. Muchos antibióticos (tilosina y lincomicina) son aprobados por la FDA (Foods And Drugs Administration) (Gillespie, 2000).

El aislamiento en cultivos celulares de la bacteria, por Lawson en 1993 permitió el desarrollo de pruebas antimicrobianas, *in vitro* y la identificación de muchos agentes como candidatos para el tratamiento y pruebas de campo con tiamulina, tilosina, valnemulina, clortetraciclina y lincomicina-espectomicina, siendo probadas por encontrarse efectividad en el tratamiento y control de EPP (O'Donovan 2001).

Control

La EPP es corrientemente controlada vía el uso de antibióticos en los alimentos o en agua. Algunas estrategias terapéuticas recomendadas para prevenir la infección con *L. intracellularis*, detienen la infección (McOrist, 1996). Estratégicamente los antibióticos para porcinos son antibióticos en combinación con la exposición a la bacteria; éstos pueden permitir el desarrollo de inmunidad, mientras evitan los signos clínicos de la enfermedad. Una posible estrategia sería el tratamiento con mayores niveles de antibióticos en el alimento, una vez que los signos clínicos son observados, aunque una continua medicación en algunos casos impedirán la respuesta inmune; aun no es clara la infección en la población (O'Donovan, 2001). Una modificación de esta estrategia es el control en el ingreso de animales reproductores (Guedes *et al.*, 2001).

Cuando los porcinos son expuestos a *L. intracellularis*, los antibióticos puedan controlar la enfermedad y permitir infección subclínica desarrollando una inmunidad a re-infección.

Por eso se recomienda lavar los corrales con agua caliente para remover todo el material orgánico, luego añadir amonio cuaternario o desinfectante básico de yodo, por 30 minutos antes de relavarlo, luego mantener vacías las jaulas, por lo menos, dos semanas. Esto sugiere que las granjas con pisos de slats pueden cargar un mayor riesgo, por la sorprendente capacidad de la bacteria para sobrevivir fuera del hospedero. Esto puede explicar en parte, la ocurrencia y habilidad de persistir en la granjas con varios sistemas de manejo (Guedes *et al.*, 2001).

La adaptación del patógeno en el intestino de los animales, sugiere que el ingreso del microorganismo a granjas previamente libres, está asociada a la introducción de animales infectados. Por lo que es importante tomar en cuenta que el sistema todo dentro-todo fuera, es el más eficaz para el control de EPP (Bane, 1997; Smith, 1997).

Las botas y overoles deben ser independientes para cada sala y colocar múltiples pediluvios para prevenir contaminaciones con heces. Finalmente, la bacteria es susceptible a soluciones como: cetrimide al 3%, amonio cuaternario y a productos basados en Yodo, por lo que su uso es recomendado (Schwartz, 2004; O'Donovan, 2001).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

Se seleccionaron 6 granjas porcinas tecnificadas del interior del país inscritas en la Asociación Peruana de Porcicultores. Estas se encuentran ubicadas en los departamentos de Ica (2), Arequipa (1), La Libertad (2) y Lambayeque (1). Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la FMV-UNMSM.

Animales

Para el cálculo del tamaño de muestra se utilizó el Teorema de Límite Central, requiriendo un mínimo de 30 muestras por granja, tomados al azar, los mismos que fueron distribuidos en cinco grupos según etapas de producción: Gorrinos en recría (entre 56 y 63 días), en crecimiento (entre 70 y 112 días), en acabado (entre 126 y 147 días); Hembras reproductoras de diversos partos y Hembras de reemplazo.

Recolección de Muestras

Se tomaron muestras de sangre (5 ml.), mediante punción de la vena cava anterior. Utilizando un sistema de tubos al vacío (Vacutainer). Las

muestras fueron identificadas y se mantuvieron en refrigeración hasta su envío al laboratorio de Microbiología de la FMV-UNMSM, el mismo día. En el laboratorio, las muestras fueron centrifugadas durante 10 minutos a 3500 RPM para la separación del suero, el suero fue trasladado a viales y éstos se almacenaron en congelación (-20°C).

Materiales

Muestreo

Materiales empleados para el muestreo:

- Cajas de teknopor,
- agujas de vacutainer,
- tubos vacutainer,
- conservadores de temperatura,
- algodón.

Equipos y Materiales de Laboratorio

- Microscopio de fluorescencia con objetivos de 40X y 100X,
- Refrigerador,
- Sistema Vacutainer,
- Estufa,
- Cámara de lavado,
- Pipeteador de 1- 200 µl,
- Congelador (-20°C),
- Viales,
- Papel lente,
- Tips.

Reactivos y Materiales de diagnóstico:

- IgG Anti-porcino marcado con isotiocianato de fluoresceína,
- Solución Buffer fosfatada (PBS pH 7.2),
- Kit comercial (ILEI-TEST).

Desarrollo de la Prueba

Los sueros mantenidos en congelación, se colocaron al medio ambiente para su descongelación. Luego del descongelado, se homogenizaron.

Los sueros descongelados y homogenizados se diluyeron con PBS (Solución Buffer Salina de pH 7.2), en proporción de 1:30, colocándose 5 µl de ésta dilución en los pocillos de la lámina del "ILEI-TEST"; en los primeros pocillos, se colocaron los controles positivo y negativo, previamente diluidos en igual proporción que la usada en los sueros, identificándolos al igual que el resto de los pocillos.

Se colocaron las láminas en cámara húmeda, por un periodo de 12 horas en refrigeración (4°C). Luego se procedió al lavado de las láminas con la solución PBS por 5 minutos por cuatro veces cambiando el PBS.

El conjugado IgG anti-porcino marcado con isotiocianato de fluoresceína se diluyó con el PBS en proporción de 1:30, de esta nueva dilución se adicionó 5 µl en todos los pocillos, volviendo a colocar la lámina con el conjugado en cámara húmeda a estufa (37°C) durante 30 minutos. Luego, se procedió al lavado, anteriormente descrito.

Posteriormente, se procedió al montaje y la observación de las muestras mediante el microscopio de fluorescencia a 40X y 100X. El criterio para definir una muestra positiva fue cuando se evidenció fluorescencia de las bacterias, lo cual se produce por la adhesión de los anticuerpos presentes en los sueros a los que a su vez se adhiere el anti-anticuerpo porcino con la fluoresceína.

Análisis de datos

Se evaluó la Frecuencia de seroreactores a *L. intracellularis* según: zona, edad productiva y procedencia. La asociación de las variables en estudio y la frecuencia de seroreactores a la bacteria *Lawsonia intracellularis* fue evaluada mediante la prueba Chi cuadrado utilizando el paquete estadístico SPSS.

Se determinó también los intervalos de confianza (I.C.) en los resultados obtenidos usando la siguiente prueba:

$$* I.C. = p \pm z \sqrt{p \cdot q / n}$$

*Siendo: p = Proporción (Frecuencia)

$$q = (1-p)$$

z = Valor tabular con 95% de confianza

n = Tamaño de muestra

IV. RESULTADOS

De los 293 sueros, la Inmunofluorescencia Indirecta detectó 16 positivos (5,5 ±0.6%) a la presencia de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* (cuadro 1 y 2).

Cuando se distribuyen los sueros porcinos según el departamento de procedencia, se encuentra una mayor frecuencia de animales seroreactores en el departamento de La Libertad con un 14.6 ±2.9%, y un menor porcentaje, en los departamentos de Ica (1.5 ±0.6%) y Lambayeque (3 ±0.8%). Mientras que

el departamento de Arequipa se presenta seronegativo (cuadro 1). Se evidenció igualmente una asociación significativa entre las variables frecuencia y procedencia de las muestras ($p>0.05$).

Cuadro 1: Proporción de muestras positivas a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* según departamentos

DEPARTAMENTO	Nº animales muestreados	Animales positivos (+)	Frecuencia % \pm I.C.
ICA	134	2	1.5 \pm 0.6
	89	13	14.6 \pm 2.9
LA LIBERTAD	37	0	0
	33	1	3 \pm 0.8
AREQUIPA			
LAMBAYEQUE			
TOTAL	293	16	5.5 \pm 0.6

En el cuadro 2, se observan los resultados obtenidos según edades de producción: gorrinos, reemplazo y reproductoras; considerándose 3 etapas dentro de los gorrinos: recría, crecimiento y acabado; en los que el mayor porcentaje de animales seropositivos a *Lawsonia intracellularis* son reproductoras (23.1 \pm 6.1%), mientras que en las etapas de acabado y reemplazo, se mostraron porcentajes de 3.3 \pm 0.7% y 6.1 \pm 1.9%, respectivamente, encontrándose además, un menor porcentaje de presencia de anticuerpos en las etapas de recría y crecimiento, evidenciados como seronegativos (0%). Se evidenció también la asociación significativa entre las variables frecuencia y etapa productiva ($p>0.05$).

Cuadro 2: Proporción de muestras positivas a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* según etapa productiva

ETAPA	Nº animales muestreados	Animales positivos (+)	Frecuencia % \pm I.C.

RECRÍA	40	0	0
CRECIMIENTO	109	0	0
ACABADO	59	2	3.3 ± 0.7
REEMPLAZO	33	2	6.1 ± 1.9
REPRODUCTORAS	52	12	23.1 ± 6.1
TOTAL	293	16	5.5 ± 0.6

V. DISCUSIÓN

A nivel mundial, esta enfermedad se presenta mayormente en granjas de crianza tecnificada, dañando seriamente la industria porcina por su demostrada tendencia de llevar a una desuniformidad de pesos, además de importantes gastos que se originan por el tratamiento. Se ha demostrado la presencia de *Lawsonia intracellularis* en muchos países, lo que permite considerar a la EPP como una enfermedad emergente. Se desconoce como ingresó la bacteria a

nuestro país, pero se presume que las relaciones comerciales con USA y países Europeos para la adquisición de porcinos podría haber sido una puerta de entrada, ya que en esos países se ha detectado la enfermedad con anterioridad (Calle *et al.*, 2002).

En el presente estudio se determinó serológicamente, mediante el ILEITEST, la exposición de porcinos de granjas tecnificadas a la *Lawsonia intracellularis*. Es importante mencionar que esta prueba determina la presencia de anticuerpos contra dicha bacteria. Cabe señalar que se encontró una frecuencia de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* de $5.5 \pm 0.6\%$ del total de sueros de los animales muestreados. Un estudio previo detectó una seropositividad total de 38.7% en granjas tecnificadas en Lima (Valdez *et al.*, 2001).

Estudios de seroprevalencia en otros países muestran índices superiores; Venezuela con una prevalencia de 22.67% (Kwiencien *et al.*, 2001), Argentina con una prevalencia de 30% (Machuca *et al.*, 2002). Brasil con una incidencia de 22.1% (Ristow *et al.*, 1999); pero también encontramos similitudes en porcentaje de 5% en Estados Unidos (Jordan, 1996), 5.5% en Taiwan (Chang, 1997); hasta un 3.3% en Korea (Kim, 1998) y en España (Lanza y Pozo, 1996).

Al ser *Lawsonia intracellularis* una bacteria intracelular, se sabe que la respuesta inmunológica del hospedero es limitada, la inmunidad protectora está presente cuando los animales son previamente expuestos a la bacteria. La seroconversión ocurre al menos de dos a cuatro semanas post infección, los porcinos expuestos a *L. intracellularis* desarrollan IgG, específico para el microorganismo (Walter *et al.*, 2004). Hay que tomar en cuenta que el test IFI detecta IgG con un mínimo de dos semanas de infección, después de la toma de muestra, antes de ese tiempo el resultado sería negativo (Guedes *et al.*, 2001) y se presume que algunas cepas poco virulentas parecen no inducir anticuerpos detectables (Schwartz, 2004). Se ha indicado también que la respuesta de IgG en el suero es detectable por tres semanas luego de la infección (Knittel *et al.*, 1998) y luego tiende a caer. Es importante el estudio a intervalos de tiempo y en cada etapa, ya que parece haber seropositividad por solo un corto período de tiempo, muchos porcinos de engorde seroconvierten

en el ultimo período (Marsteller *et al.*, 2003) y; se ha demostrado en algunos casos, que los anticuerpos son relativamente buenos a la presencia de lesiones, mas no a la exposición a la bacteria, en donde no siempre induce seroconversión en todos los casos (McOrist, 1996).

En un estudio hecho usando cultivos puros de enterocitos de ratón infectados con *Lawsonia intracellularis*, el comienzo de la respuesta de IgG fue notada a los 14 días, pero no fue hasta el día 21 que fue detectable la respuesta inmune y fue inducida en alrededor del 80% de los animales expuestos (Knittel *et al.*, 1998).

Finalmente, podemos decir sin duda que el tipo de crianza de tipo intensiva o tecnificada, puede favorecer la diseminación de la infección, por factores ya mencionados, como son: una inadecuada desinfección, el tipo de piso o cama, tamaño de la población, introducción de animales en las últimas etapas de engorde, medicación o ausencia de ésta en periodos decisivos. Aquí podemos señalar que algunas granjas muestreadas, presentaban signos clínicos de diarreas, pero el tratamiento usado es muy general, por lo que no hay una prevención y control adecuados para la ocurrencia de una posible Ileitis causada por *Lawsonia intracellularis*, para lo cual debería tomarse en cuenta la realización de éste test (IFI) en los diversos corrales y en cada campaña de producción para controlar el nivel de infección en la población.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Mediante los resultados obtenidos en el desarrollo de la técnica de Inmunofluorescencia indirecta utilizada para detectar anticuerpos contra *Lawsonia intracelullaris* aplicada en el presente trabajo se concluye lo siguiente:

1. Se detectó anticuerpos contra la bacteria en proporción de $5.5 \pm 0.6\%$ (16/293) en sueros de cerdos provenientes de granjas en los departamentos de Ica, Arequipa, La Libertad y Lambayeque.
2. Se hallaron valores de seropositividad en los animales de $14.6 \pm 2.9\%$ (13/89) en La Libertad, $3 \pm 0.8\%$ (1/33) en Lambayeque, $1.5 \pm 0.6\%$ (2/134) en Ica. Encontrándose el departamento de Arequipa seronegativo.
3. Según la etapa de producción de los animales, se encontró en el caso de animales en recría y crecimiento, seronegativos; por lo que podemos concluir que hay un riesgo de los animales en acabado, con valores de $3.3 \pm 0.7\%$.
4. En las hembras de reemplazo se halló un $6.1 \pm 1.9\%$ (2/33) y un $23.1 \pm 6.1\%$ (12/52) de seropositividad en las hembras reproductoras, encontrándose a éstas como una potencial fuente de infección.
5. Finalmente, los factores mencionados como son, la procedencia y etapa productiva, representan diversos niveles de riesgo en la presentación de la enfermedad comprobándose que la bacteria está presente en los departamentos estudiados de nuestro país por lo que se recomienda otros estudios para complementar el presente y formular medidas de prevención y control específico para cada realidad en cada granja.

VII. APÉNDICE

Cuadro 4: Proporción de muestras positivas a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* según granjas

GRANJA	Departamento	Nº animales muestreados	Animales positivos (+)	Frecuencia %± I.C.
1	Ica	33	2	6.1±1.9
2	La Libertad	40	10	25 ± 7.6
3	Arequipa	37	0	0
4	La Libertad	49	3	6.1± 0.6
5	Ica	101	0	0
6	Lambayeque	33	1	3 ± 0.8
TOTAL		193	16	5.5 ± 0.6

Cuadro 5: Proporción de muestras positivas a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* según el departamento y el etapa productiva

DEPARTAMENTO	GORRINOS			REEMPLAZO			REPRODUCTORAS		
	N	(+)	%±I.C	N	(+)	% ± I.C.	N	(+)	% ± I.C.
ICA	115	0	0	3	1	33.3±37.1	16	1	6.3 ± 2.8
LA LIBERTAD	50	1	2±0.4	12	1	8.3±8.4	27	11	40.7±15.2
AREQUIPA	23	0	0	9	0	0	5	0	0
LAMBAYEQUE	20	1	5±1.9	9	0	0	4	0	0
TOTAL	208	2	1±0.1	33	2	6.1± 0.6	52	12	23.1± 6.1

Cuadro 6: Proporción de muestras positivas a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* según Número de parto

REPRODUCTORAS			
N° de PARTO	N° animales muestreados	Animales positivos (+)	Frecuencia % \pm I.C.
Entre 1° y 3°	28	7	25 \pm 9.1
Mayor a 4°	24	5	20.8 \pm 8.1
TOTAL	52	12	23.1 \pm 9.3

Cuadro 7: Proporción de muestras positivas a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* según Edad de animales de engorde

EDAD PRODUCTIVA	GORRINOS EN ENGORDE			
	EDAD EN SEMANAS	N° animales muestreados	Animales positivos (+)	Frecuencia % \pm I.C.
RECRÍA	8	15	0	0
	9	25	0	0
CRECIMIENTO	10	15	0	0
	12	40	0	0
	14	15	0	0
	15	24	0	0
	16	15	0	0
ACABADO	18	40	1	2.5 \pm 0.6
	21	19	1	5.3 \pm 2.2
TOTAL		208	2	1 \pm 0.1

VIII. LITERATURA CITADA

1. **Bane D., Newmann E., Beghart C., Gardner I., Norby B.** 2001. Porcine Proliferative enteropathy: a case-control study in swine herds in the US J Swine Health Prod. 9(4):155-158.
2. **Bane D., Gebhart C., Gardner I.** 1997. Epidemiology of porcine proliferative enteropathy: A case control study. Proc. AASP. 27:429-431.
3. **Beckler D., Kapur V., Gebhart C.** 2004. Molecular epidemiology of *Lawsonia intracellularis*. Proceedings of Allen D. Leman Swine Conference 2004: 25-55.
4. **Beers P.** 1984. Studies on Porcine Adenomatosis with particular reference to proliferative haemorrhagic enteropathy. Proc AASP. 27:429-431.
5. **Biester H. y Schwarte L.** 1931. Intestinal adenomas in swine. Am J Pathol. 7:175-185.
6. **Boesen H., Jensen T., Schmidt A., Jensen B., Jensen S., Moller K.** 2004. The influence of diet on *Lawsonia intracellularis* colonization in pigs upon experimental challenge. Vet. Mic. 103: 35-45.
7. **Bronsvort M., Norby B., Bane D.** 2001. Management factors associated with seropositivity to *Lawsonia intracellularis* in US swine herds. J Swine Health Prod. 9(6):285-290.
8. **Brungard G.** 1998. Effects of cereal type feed particle size on morphological characteristics, epithelial cell proliferation and lectin binding patterns in the large intestine of pigs. J Anim Sci. 76:2787-2798.

9. **Calle S., Chavera C., Sandoval N., Cerón M., Valdez M., Torres M.** 2002. Primer reporte de Ileitis necrótica causado por *Lawsonia intracellularis* en porcinos de granjas de Lima-Perú: estudios serológicos y anatomohistopatológicos. I Congreso Latinoamericano de Suinocultura. 16-18 Octubre 2002 - Brasil. p: 47-48.
10. **Chiriboga A., Guimaraes W., Vanetti M. y Araujo.** 1999. Detection of *Lawsonia intracellularis* in faeces of swine from on the main producing regions in Brasil. Can Microbiol Mar, 45(3):230-234.
11. **Camacho C.** 2003. Cerdos peruanos con nuevos mercados. Rev. Mundo Porcino Nº 3 Octubre 2003: 18-20.
12. **Collins J y Libal M.** 1983. Proliferative enteritis in two pups. J Am Vet Med Assoc. 183:886-889.
13. **Collins A., Van Dijk M., Vu N., Pozo J., Love R.** 2001. Immunity to *Lawsonia intracellularis*. Proceedings of Allen D. Leman Swine Conference.p:115-120.
14. **Cooper D.** 1996. Proliferative enteritis in the hamster, horse, deer and ostrich: detection and characterization of *Lawsonia intracellularis*. MSc. Thesis. Univ. Minesota.
15. **Cooper D. y Gebhart C.** 1998. Comparative aspects of proliferative enteritis. J Am Vet Med Assoc. 212:14446-1451.
16. **Drolet R., Larochelle D. y Gebhart C.** 1996. Proliferative enteritis associated with *Lawsonia intracellularis* (Ileal symbiont intracellularis) in white-tailed deer. J Vet Diagn Invest. 8:250-253.
17. **Duhamel G., Wheeldon E.** 1982. Intestinal adenomatosis in a foal. Vet Pathol 19:447-450.
18. **Elanco.** 2000. Swine Ileitis prevention study.
19. **Emsbo P.** 1951. Terminal or regional ileitis in swine. Nord Vet Med 3:1-28
20. **Eriksen K. Y Landesberk T.** 1985. Intestinal adenomatosis in the blue fox. Nord Vet Med. 37:254-255.

21. **Fox J. y Lawson G.** 1998. Campylobacter-like omega intracellular antigen in proliferative colitis in ferrets. Lab Anim Sci. 38:34-36.
22. **Frisk C y McOrist S.** 1995. Hamster challenge model for evaluation effectiveness of chlortetracycline in prevention-control of porcine proliferative enteropathy. Proc AASP Annu Meet.p.93-97.
23. **Gebhart C.** 1993. Ileal symbiont intracellularis, an obligate intracellular bacterium of porcine intestines showing a relationship to Desulfovibriospecies. Int J Sys Bacteriol.43 (3):553-538.
24. **Gebhart C., McOrist S.** 1994. Etiology of proliferative enteropathy.Proc Am Assoc Swine Pract. p. 264-266.
25. **Gebhart C.** 2001. Ileitis (PE) Research update. Proceedings of Swine disease Conference for Swine practitioners.November 8,9 2001.p. 72-75.
26. **Gebhart C.** 2005. Diagnostics and immunity of Ileitis. Enteric Diseases pig progress. p:9-11.
27. **Gebhart C., Guedes R.** 2001. Challenges With molecular diagnostics (PCR): Ileitis .Proceedings of Allen D.Leman Swine Conference. P.53-56.
28. **Gillespie T.** 2000.Ileitis: A practitioner's perspective.Proceedings of Swine diseases Conference for swine practitioners. November 9,10 2000.p. 25-28
29. **Guedes R., Gebhart C.** 2001. Ileitis: Evaluation and interpretation of serological results. Proceedings of Allen D.Leman Swine Conference.p. 111-114.
30. **Guedes R., Gebhart C.** 2002. Onset and duration of fecal shedding cell-mediated and humoral immune responses in after challenge with a pathogenic isolated or attenuated vaccine strain of *Lawsonia intracellularis*. Vet. Mic. 91:135-145.
31. **Guedes R.** 2005. Lawsonia intracellularis: a barrier to health and performance. Enteric Diseases pig progress. p: 12.13..

32. **Holyoake P.** 1994. Enzyme-linked immunosorbent assay for measuring Ilea Symbiont intracellularis-specific immunoglobulin G response in sera in pigs. J Clin Microb.32 (8): 1980-1985.
33. **Jordan D., Knittel J., Schwartz K., Roof M., Hoffman I.** 2004. A *Lawsonia intracellularis* transmission study using a pure culture inoculated seeder-pig sentinel model. Vet.Mic. 104:83-90.
34. **Just S., Thoen C., Thacker B., Thompson J.** 2001. Monitoring of *Lawsonia intracellularis* by indirect serum immunofluorescence assay in a commercial swine production system. J Swine Health Prod. 9(2):57-61.
35. **Knittel J., Jordan D., Schwartz K., Janke B., Roof M., McOrist S y Harris D.** 1998. Evaluation of antemortem polymerase chain reaction and serological methods for detection of *Lawsonia intracellularis* exposed pigs. AJVR.59:722-726.
36. **Kwiecien E., Bermudez U., McOrist S.** 2001. Detection of *Lawsonia intracellularis* in Venezuela pig farms. American Association of swine Veterinarians. P.247-249.
37. **Lanza I. y Pozo J.** 1996. Epidemiología de la Ileitis porcina. Porci Vet 32:42-49.
38. **Lawson G. y Gebhart C.** 2000. Proliferative enteropathy. J. Comp Path 122:77-100.
39. **Lawson G., McOrist S.** 1993. Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy: Cultivation and maintenance in vitro. J Clin Microb.31(5):1136-1142
40. **Lawson G y Rowland A.** 1985. Demonstration of a new intracellular antigen in porcine intestinal adenomatosis and hamster proliferative Ileitis. Vet Microb. 10:303-313.
41. **Leblanc B., Fox J., Le Net J., Masson M., Picard A.** 1993. Hyperplastic gastritis with intraepithelial *Campylobacter*-like organisms in a Beagle dog. Vet Pathol. 30:391-394.
42. **Leser T., Lindencroma R., Jensen T., Jensen B., Moller K.** 2000. Changes in bacterial community structure in the colon of pigs fed

- different experimental diets and after infection with *Brachyspira hyodysenteriae*. Appl. Environ Microbiol. 66, 3290-3296.
43. **López J.** 2003. Métodos para el control de Enteropatía Proliferativa Porcina (Ileitis). Mundo Avícola y Porcino. Bol. Inf. SENASA Agos-Sep: 47:45-46.
 44. **Loula T.** 2004. Ileitis: Current thoughts on prevention. American Association of Swine Veterinarians. p. 511-513.
 45. **Love R y Love D.** 1977. Control of proliferative haemorrhagic enteropathy in pigs at slaughter. Vet. Rec. 103:338-339.
 46. **Machuca M., Cappuccio J., Venturini M., Quiroga., Luna F., Quitar J., Perfumo C.** 2004. Enteropatía Proliferativa Porcina: Estudio serológico vertical en una granja con alta prevalencia. Anais Trabalhos Científicos II Congreso Latinoamericano de Suinocultura 20-22 Octubre de 2004-Foz de Iguazú-Brasil: 478.
 47. **Machuca M., Riganti J., Puerta J., Venturini C., Sanguinetti H., Risso M., Perfumo C.** 2002. A survey of *Lawsonia intracellularis* antibodies in fattener pigs in Argentina. Proceedings of the 17th IPVS Congress, Ames, Iowa, USA. 2002. Vol.2.:194.
 48. **Machuca M., Riganti J., Perfumo C.** 2002. Actualización sobre una enfermedad emergente de los cerdos: La Enteropatía proliferativa. Rev. Med. Vet. 87:2:53-58.
 49. **Mapother M., Joens L. y Glock R.** 1987. Experimental reproduction of porcine proliferative enteritis. Vet Rec. 121: 533-536.
 50. **Marsteller T., Armsbruster G., Bane D., Gebhart C., Muller R., Weatherford J., Thacker B.** 2003. Monitoring the prevalence of *Lawsonia intracellularis*, IgG antibodies using serial sampling in growing and breeding swine herds. J Swine Health Prod. 11(3):127-130.
 51. **McOrist S., Boid R., Lawson G. y McConell I.** 1987. Monoclonal antibodies to intracellular Campylobacter-like organisms of the porcine proliferative enteropathies. Vet Rec. 121:421-422.

52. **McOrist S. y Lawson G.** 1989. Reproduction of proliferative enteritis in gnotobiotic piglets. *Res vet Sci.*46:27-33.
53. **McOrist S., Jasni S., Mackie R., MacIntyre N., Neef N. y Lawson G.** 1993. Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure cultures of ileal symbiont intracellularis. *Infect Immun.*61:4286-4292.
54. **McOrist.** 1993. Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure cultures of ileal symbiont intracellularis. *Infect Immun* 61(10):4286-4292.
55. **McOrist.** 1996. Treatment and prevention of porcine proliferative enteropathy with oral tiamulin. *Vet Rec.* 139:615-618.
56. **McOrist S.**1999.Ileitis illuminated by new diagnostic tools. *Enteric diseases pig progress.*1999:8-10.
57. **McOrist S.** 2000. Antimicrobial activity against *Lawsonia intracellularis* an obligate intracellular bacterium. *American Association of Swine practitioners.*p.251-252
58. **McOrist S.** 2004. Treatment and control of Ileitis. *Proceedings of Twelfth Annual Swine Disease Conference for Swine practitioners* November 11-12, 2004.p. 50-53.
59. **McOrist S., Gebhart C.** 1995. Characterization of *Lawsonia intracellularis* gen nov. Sp. Nov the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. *Int J Sys Bacteriol.* 45(4):820-825.
60. **McOrist S., Gebhart C.** 1996.*Swine diseases.* Ed.Iowa State Univ.Press. 6ta ed.521-533.
61. **McOrist S., Gebhart C.** 1999. Porcine proliferative enteropathies. In *Straw B.Diseases of Swine* (th edition, Iowa State University Press, Ames, IA .p. 521-534.
62. **Moore G. y Shryock T.** 1996. *Lawsonia intracellularis* and swine enteric diseases. *Comp Contin. Educ. Pract. Vet.* 18:S11-S17.
63. **O'Donovan J.** 2001. Ileitis and Its Control; Knowing your enemy. *Pig Progress disease management series.* October 2001p. 14-16.

64. **Perfumo C. Sanguinetti R.** 1997. Enteropatía proliferativa del cerdo. Descripción clínico patológica y visualización con microscopía óptica y electrónica del microorganismo *Ileal Simbionte intracellularis*. Rv Med Vet 78:69-72.
65. **Rabb S., Leiser E.** 1998. Effects of energy and purinis in the diet on proliferation, differentiation and apoptosis in the small intestine of the pigs. Metabolism. 47:1105-1111.
66. **Ristow L., Silva L. Perez A.** 2001. Levantamento serológico da Enteritis Proliferativa dos suínos (ILEITE) no estado de Minas Gerais. X Congresso Brasileiro de Veterinários especialistas em suínos 15-18 Octubre de 2001:43.
67. **Roberts L., Rowland A y Lawson G.** 1977. Experimental reproduction of porcine intestinal adenomatosis and necrotic enteritis. Vet Rec. 100:12-13.
68. **Roof M.** 2001. Vaccinating for Ileitis. Proceedings of Allen D. Leman Swine Conference. p. 121-126.
69. **Roof M., Kroll, Gebhart C.** 2004. Ileitis: What we about inmunity? Proceedings of Allen D. Leman Swine Conference 2004:81-82.
70. **Rowland A. y Hutchings D.** 1978. Necrotic enteritis and regioanl ileitis in pigs at slaughter. Vet Rec. 103.338-339.
71. **Schwartz K.** 2004. Current status of "Ileitis" in the midwest. Proceedings of Swine disease Conference for Swine practitioners November 9-10 2000. p. 25-34.
72. **Smith D., Mitchell S., Nash T., Rhind S.** 2000. Gamma interferon influences intetsinal epithelial hyperplasia caused by *Lawsonia intracellularis* infection in mice. Inf and Inmun. 68:6737-6743.
73. **Smith S., McOrist S.** 1997. Development of persistenet itestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. Res Vet Sci 62:6-10.
74. **Stege H., Jensen T. Moller k., Vestergaard K., Baekbo P., Jorsal S.** 2004. Infection dynamics of *Lawsonia intracellularis* in pig herds. Vet. Mic. 104:197:206:197-206.

75. **Tomanova k., Klims J., Smola J., Husnik R.** 2003. Detection of *Lawsonia intracellularis* in a pig with inflammatory bowel disease using nested PCR and serology. Vet. Med. Czech. 48:2003(4):108-112.
76. **Valdez M.** 2001. Detección de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* en porcinos provenientes de granjas tecnificadas del valle de Lima y Huaral. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM, Lima.
77. **Valdez M., Calle S., Cerón M.** 2001. Presencia de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* por Inmunofluorescencia Indirecta en porcinos de las zonas de Lima y Huaral. Rev. Inv. Per. 2001:1:402-404.
78. **Vanderbergher J., Verheyen A., Lauwers S. y Geboes K.** 1985. Spontaneous adenocarcinoma of the ascending colon in Wistar rats: the intracytoplasmic presence of a Campylobacter-like bacterium, J Comp. Pathol. 95:45-55.
79. **Veenhuizen M. et al.** 1998. The potential economic impact of porcine proliferative enteropathy on the US Swine industry. Proc 15th IPVS Congress, 5-8 July, Birmingham, England, 2:64.
80. **Walter D., Gebhart C., Kroll B., Holck J., Chittick W.** 2004. Serologic profiling and vaccination timing for *Lawsonia intracellularis*. J. Swine Health Prod. 12(6): 310-313.
81. **Wendt T., Bonitz A., McOrist S.** 2000. Prevalence of *Lawsonia intracellularis* infection in German breeding herds. Proc 16th IPVS Congress 17-20 September. Melbourne-Australia. p:27.
82. **Williams N., Harrison N. Y Gebhart C.** 1996. Proliferative enteropathy in a foal caused by *Lawsonia intracellularis*-like bacterium. J Vet Diagn Invest. 8:254-256.
83. **Young B.** 1969. A reliable method for demonstrating spirochaetes in tissue sections. J Med Lab Technol.